DOI:10.11931/guihaia.gxzw201905044

多星韭（*Allium wallichii*）的传粉生态学初探

唐汉青[1,3]，王晓月[1,3]，张子楠[1,3]，相孟达[1,3]，张祥棵[4]，汤晓辛[1,2*]

(1. 贵州师范大学 国家林业局西南喀斯特山地生物多样性保护重点实验室，贵阳 550001；2. 贵州师范大学 植物生理与发育调控重点实验室，贵阳 550001；3. 贵州师范大学生命科学学院，贵阳 550001；4. 贵阳市第一中学，贵阳 550001)

摘要：韭菜坪地区是世界最大的野生韭菜花带，全国唯一的野生韭菜花保护区。为探讨多星韭在该地区的传粉生态学特性以及生态适应性，本研究对多星韭的花期、形态特征、访花者进行了定点观察实验，通过人工授粉实验探究它的繁育系统；通过海洋光谱仪检测蜜蜂视觉对两种花色的显著性；通过气相色谱进行测定其各部分的次级代谢产物的组成。结果表明：多星韭花为雄先熟，单花期为7~8 d，花序持续开花时间为25~28 d；花蜜量为0.61±0.07 μL；中华蜜蜂(*Apis cerana*)为主要有效传粉者，隧蜂、食蚜蝇、蝇类为偶见访花者；海洋光谱仪的测定结果表明紫色花色在绿叶中对蜜蜂视觉来说更显著。访花者在不同花色间的访花频率有显著性差异，但单次访花频率无差异。当两种花色同时存在时中华蜜蜂会优先访问紫色花的多星韭，在访紫花时，由于受到气味的影响,大部分蜜蜂也会访相邻的白花多星韭。多星韭的次级代谢产物分析结果表明，茎、子房和花梗含有多种刺激性含硫代谢物，花器官以及花蜜拥有多种花香类次级代谢物；其有性繁殖为自交和异交混合交配系统，具有无融合生殖。综上说明，多星韭在该地区不存在花粉限制,多星韭的繁殖学特征表明其具有能较好的环境适应性。本研究对多星韭在韭菜坪的资源保护和繁育调控奠定了基础。

关键词：多星韭，传粉生物学，次生代谢物，气相色谱，反射光谱

中图分类号： Q949.9　　　　**文献标识码：** A

Pollination biology of *Allium wallichii*

TANG Hanqing[1,3], WANG Xiaoyue[1,3], ZHANG Zinan[1,3], XIANG Mengda[1,3], ZHANG Xiangke[4], TANG Xiaoxin[1,2*]

(1. *State Key Laboratory of Southwest Karst Mountain Biodiversity Conservation of National forestry and grassland administration*, Guiyang 550001, China; 2. *Key Laboratory of Plant Physiology and Development in Guizhou Province, Guizhou Normal University*, Guiyang 550001, China; 3. *College of life science, Guizhou Normal University*, Guiyang 550001, China; 4. *Guiyang No.*1 *High School*, Guiyang 550001, China)

Abstract: Jiucaiping is the largest wild leek flower belt in the world,which is the only wild leek

---

基金项目：国家自然科学基金与贵州省喀斯特科学研究中心联合基金（U1812401）；国家自然科学基金（31560184, 31300317, 31760076）；贵州省科技合作计划项目（2019[1237], LH- [2017]7374, LH-[2015]7764）[Supported by the Joint Fund of the National Natural Science Foundation of China and the Karst Science Research Center of Guizhou province (U1812401); Natural Science Foundation of China (31560184, 31300317, 31760076); Science and Technology Fund of Guizhou Province(2019[1237], LH- [2017]7374, LH-[2015]7764]。

作者简介：唐汉青(1994-)，男，山东青岛人，硕士研究生，主要研究方向为传粉生态学，（E-mail）984690765@qq.com。

[*]**通信作者：**汤晓辛，博士，教授，研究方向为进化生态学，（E-mail）365397245@qq.com。

flower reserve in the country. In order to explore pollination biology and ecological adaptation of *Allium wallichii*, we conducted the following experiments: observed the flowering period, flower visitors and nectar, estimation of breeding system by artificial pollination, the composition of secondary metabolites in each part was determined by gas chromatography, detection of the significant to bee vision in color by ocean spectrometer. The results show that *A. wallichii* is protandry, the single flowering stage is 7~8 days, and the continuous flowering time of inflorescence is 25~8 days. The amount of nectar is 0.61±0.07 μL. *Apis cerana* is the main effective pollinator. The results of the ocean spectrometer showed that purple flower was more significant to bee vision in leaves. There was a significant difference in flower visit frequency among different flower colors, while there was no difference in single flower visit frequency. When the two colors were present at the same time, the bees will give priority to the purple flowers, due to the influence of smell, when visiting purple flowers, most bees also visited adjacent white flowers. The results of secondary metabolites analysis of *A. wallichii* showed that stems, ovaries and pedicels contained a variety of irritating sulfur metabolites, while the flower organs and nectar had a variety of secondary metabolites of floral fragrance. Its sexual reproduction was self-matting and cross-mating mixed mating system with apomixis. In summary, there is no pollen restriction of *A. wallichii* in this area, which reproductive characteristics have good environmental adaptability. This study laid a foundation for resource protection and breeding regulation of *A. wallichii*.

Keyword：*Allium wallichii*, pollination biology, secondary metabolites, gas chromatography, reflectance spectroscopy

进化生态学中研究最为广泛的领域是传粉生物学，主要研究内容包括花的形态特征、繁育系统、花的寿命、次生代谢物、传粉者种类和访花频率、种群亲和程度等（王洁, 2012），传粉特征是影响后代遗传组成和环境适应度的主要因素(Wyatt, 1983; 何亚平等, 2003)。已有的研究表明大部分植物的繁殖特征是植物与传粉者长期相互作用的结果（Totland, 2001; Nilsson, 1988），植物对传粉者的适应是植物性状进化的主要选择压力之一（Jones & Reithel, 2001;卢清彪等, 2019）。

植物自身与传粉相关的因素有花色、花蜜、花粉以及植物次生物质等，这些因素皆会影响昆虫的访花行为（官昭瑛等, 2005）。访花昆虫能精确地识别次生物质产生的特定的气味组分。例如：向日葵花的气味多达 144 个，蜜蜂能感受到其中至少 28 个特定成分，研究结果表明蜜蜂与向日葵的花香气味是高度适应匹配的（Dobson, 1994; Knudsen et al., 1993; Surburg et al., 1993）。植物的挥发性次生物质产生的气味对植物体本身还有一定的防御作用，例如：其中一些特殊物质会使啃食者等非访花昆虫远离（Appel & Schultz, 1994; Gronquist et al., 2001; 王小菲等, 2016)。由此可见植物的次生代谢物与昆虫在长期的生存适应中互相影响有着密切联系（Michael & Colin, 2000）。通常花色被认为是可引导传粉者识别的信息，不同传粉者因对食物的需求不同而对不同花色的植物存在偏好，从而造成了访花频率的差异。(Faegri & van, 1979; Fenster et al., 2004; 汤晓辛和黄双全, 2012) 。但随着海拔的提升传粉昆虫的多样性、丰富度和活动能力会随着海拔的升高而降低(Arroyo et al., 1985; Bingham & Orthner, 1998)，这也使得许多高山植物的有性繁殖遭受着花粉限制。因此，如何在高山环境下突破花粉限制，吸引更多有效传粉者是高山植物有性繁殖成功的重要突破点。研究高山地区植物的性状与昆虫访花特性对解析访花昆虫与植物之间协同进化具有重要意义。多星韭（*Allium wallichii*）为百合科葱属植物，生于海拔 2 300~4 800 m 的湿润草坡、林缘、灌丛下或沟边，主要分布在四川（西南部）、西藏（东南部）、云南、贵州、广西北部（猫儿山）和湖南南部（莽山），印度

北部、尼泊尔、锡金和不丹也有分布（中国科学院中国植物志委员会, 1980）。多星韭在民间也被当做一种药食同源的植物，具有较高开发价值。在贵州屋脊的赫章韭菜坪地区，为世界最大的天然野韭菜花带，多星韭为该地区绝对优势物种。葱属植物含有丰富的生物活性物质，具有多种生理功能（司民真等, 2015），其中含硫化合物是葱属植物特有的香气成分，具有一定的药理功能和抗菌、抗真菌作用（邹忠梅等, 1999），传粉者对花的气味有很高的辨识度，气味与访花者觅食偏好有很大关系（Jones & Little, 1983）。那么多星韭所具有的的特殊气味是否与传粉者间存在高度的适应匹配。目前有特殊气味的次生代谢物的存在对多星韭的繁殖生态学中的意义还未曾有研究报道过。而且近年来对多星韭的研究多见于生态遗传学，取得了很多有价值的结果，但关于多星韭的传粉生态学研究鲜有报道。本研究通过野外观察、人工授粉实验和室内气相色谱分析多星韭各部次生代谢物组成，以及反射光谱测定，旨在对多星韭的繁育系统特征和传粉生态特性进行探究。从而为进一步了解多星韭的繁殖生态和生活史特征，以及韭菜坪地区多星韭繁殖保育策略的制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与研究地点

本实验于 2017 与 2018 年 9 月-10 月在贵州省毕节市赫章县韭菜坪（103° 36′ —104° 45′ E，26° 19′ —27° 27.28′ N）进行多星韭的野外观察和实验样品采集。本实验区域海拔为 2 700 m 左右，顶部为相对平缓的台地，高原气候，阴晴不定，早上与傍晚多阴冷天气，中午阳光强烈。

1.2 研究方法

1.2.1 形态特征与花期物候

随机选取正在开花的的多星韭 50 株测量株高、叶长、叶宽、茎宽、茎厚、梗长、梗直径、花药长、花药宽、雌蕊长、花柱长、花柱宽、雄蕊长。除株高和叶长用米尺测量外，其余均用游标卡尺进行测量。在样地随机选取多星韭花序 30 支计数花粉，在每一花序上随机采一个将要开放的花苞固定于 75%酒精溶液中带回实验室。每个花苞捣碎制成 1.5mL 的花粉悬浊液，用移液枪吸取悬浊液在显微镜下用计数器统计花粉量，每朵重复计数 3 次，计算单花花粉量 P。将每朵花的子房在体视镜下用解刨针刨开，统计每个子房内的胚珠数目 O。计算公式为：P/O=花粉量/胚珠数。在样地中随机选取 50 株开花植株统计单花期，从花序上随机挑取将要开放的花苞并做好标记，每天固定时间段统计观察单花状态以及花苞期、雄期、雌期、凋谢的变化。再随机挑选 50 株多星韭做好序号标记统计开花物候，每两天统计每个花序的花苞数、雌期数、雄期数、凋谢数的变化。花朵刚开放时为雄期，判断花朵开放的标准是花瓣刚膨大展开，判断雌期的标准是花药将要枯萎柱头发红，判断花朵枯萎的标准是花瓣萎缩失去光泽、并开始脱落。

1.2.2 访花行为与访花效率

随机选取一定数量已开放的多星韭花序并计数花朵总数，在晴天 10.00-17.00 时段观察访花昆虫的种类并记录访花行为和频率。在野外发现有少量的白花多星韭，为了探讨多星韭花色对访花者的影响，围绕花色进行了两种访花观察实验：1.分别对独立的白花种群和紫花种群进行访花观察，统计所观察的花朵数并记录访问次数和单次访花频率；2.选择自然状态下白花花序和紫花花序混合在一起的大小相似的花序同时进行观察（图 1），分别统计花朵数并记录先访次数以及单次访花频率和访花次数。对访问的昆虫进行捕捉带回鉴定。随机选取 30 支开花花序去掉已开花朵并进行套袋处理。开花后解开套袋并等待访花者完成一次访花后，立即采集被访花朵和柱头各 30 个，并用 75 %酒精进行分装固定带回实验室，在显微镜下统计柱头花粉数量，花粉移出需研磨成 1.5 mL 花粉悬浊液，计算单次移出与落置花粉的量。在访花者集中访花活动结束后的下午随机采取自然状态下开花花朵 30 朵。收集柱头和花朵用

75 %酒精分装固定带回，在实验室进行上述操作，计算自然移出与落置的花粉量。

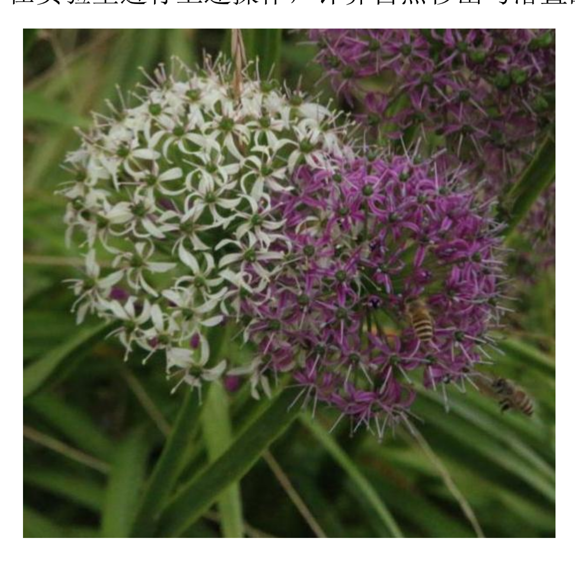


图 1 蜜蜂对两种花色的花朵进行访花

Fig. 1 Bees visit flowers of two colors

1.2.3 各部分组成分的测定

分别采多星韭根、茎、叶、花、子房、花粉、花瓣、花梗、花蜜，做标记与记录。花粉放置于-20 ℃冷冻保存，取花蜜前将刚开放的花用套袋套好，24 h 后摘取套袋，用内径 0.3 mm 的毛细管将花蜜吸出，用游标卡尺（0.05 mm）测量蜜柱长度，测量后的花蜜吹在干燥滤纸上用离心管 4 ℃ 带回实验室封存于 4 ℃ 冰箱，其余样品采集后均在 40 ℃ 的干燥箱中，进行 24 h 烘干。用无水乙醇将花蜜定容到 1.5 mL，其余样品均准确称取 0.1 g 组织样于研钵中充分研磨后，用无水乙醇提取样品于离心管中，并用离心机 5 000 r•min^{-1} 离心五分钟取上清液封存于 4 ℃ 冰箱中保存待用。本实验以大蒜素为标准品，通过气相色谱分析仪（安捷伦 6890）进行气相色谱分析。

1.2.4 人工控制授粉实验

为了研究多星韭在不同情况下的结实情况，在实验样地随机选取五十株植株对其花序进行套袋处理，并在每个花序上随机挑取五个将要开放的花苞，待开花后分别做以下处理：（1）仅套袋：以检测是否存在自动自花授粉；（2）去雄：以检测是否存在无融合生殖；（3）自花授粉：用自身花粉授粉，以检测自交是否亲和；（4）异花授粉：花粉来源于 10 m 外的其他植株；（5）对照: 不套袋，不做任何处理。每种处理都用一种颜色的线做好标记，到结实期收取果实，进行结实统计。

1.2.5 花的光谱反射率

分别采集两种花色的多星韭的花瓣、花药和叶片每个部位来自三株不同的个体，用海洋光谱仪（Ocean Optics RPH-1）进行反射率的测定，将波长在 300~700 nm 的光波反射值进行计算。

1.3 数据分析

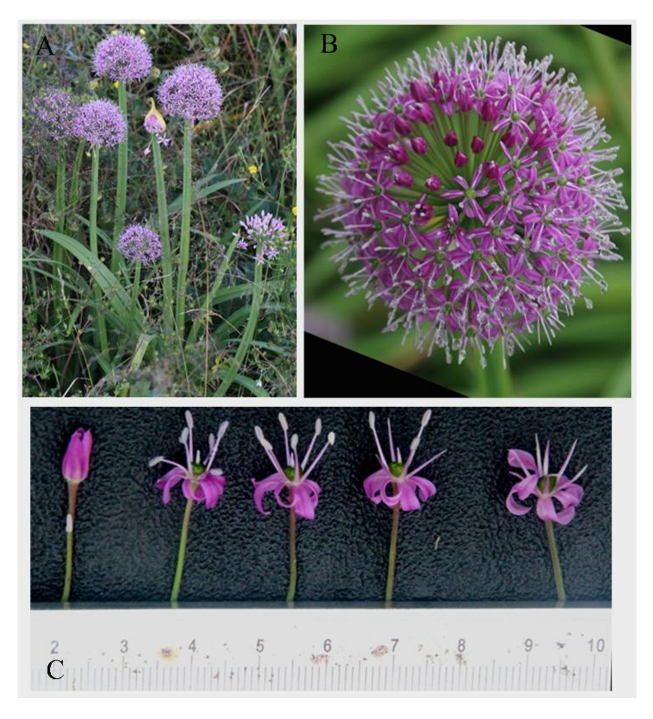
本实验所有数据结果均用软件 IBM SPSS Statistics 20 进行处理，用线性回归方程进行计算。

2 结果与分析

2.1 多星韭的形态特征与花期物候

多星韭的花香具有特殊的辛香，花序由下向上开放，花雌雄异熟，多星韭有六个花药分

两批成熟，每次成熟裂开三个花药。雄期时柱头比雄蕊短，雌期时柱头生长至与雄蕊等长或者高于雄蕊，柱头成熟呈紫红色，此时柱头易授粉。如图 2 所示，多星韭单花花期为 7~8 d，雄蕊持续时间为 2~4 d。花序从开花到完全凋谢需 25~28 d。株高 64.04±1.54 cm，茎三菱柱型有少量为四菱或六菱，茎均宽为 11.65±3.11 mm，茎均厚为 5.97±0.19 mm，叶条形有四片，叶均长 65.65±1.66 cm 均宽 10.92±0.44 cm。为伞形花序，具密集的花，约有 50~130 朵花，花梗等长，花梗均长 27.86±0.55 mm，花梗均直径为 1.06±0.02 mm，花瓣大多为淡紫色，花瓣均长 8.22±0.50 mm，均宽 2.79±0.05 mm。雌蕊均长 4.38±0.08 mm，柱头均长 3.38±0.78 mm，雌期时柱头增长花药枯萎脱落，雌蕊均长 8.07±0.14 mm，柱头均长 5.67±0.13 mm，雄蕊均长 9.43±0.43 mm，花药为淡紫色，花药均长 2.69±0.05 mm，花药均宽 1.08±0.04 mm。多星韭单花花粉数为 100 336.21±4 909.64，花粉数量较多，胚珠数 5.90±0.45，其 P/O 比为 17 942.50±5 117.84。



注：**A**. 植株形态, **B**. 花序, **C**. 单花形态（从花苞期到雌期）。

Note: **A**. Plant morphology, **B**. Inflorescence, **C**. Single flower (from bud to female).

图 2 多星韭的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of *Allium wallichii*

2.2 访花行为与访花效率

经过长时间的访花观察，我们发现多星韭的主要访花者为蜜蜂（图 3），蜜蜂访花主要在中午 11：30 以后，蜜蜂会访问一朵花序中半数以上的已开花朵，蜜蜂单次停留时间为 1~3 s，其足落于花序上，在不同花朵间四处走动，吸取基部花蜜，吸取花蜜时头部、腹部和足在花药与柱头间擦碰完成授粉。隧蜂、食蚜蝇、蝇类为偶见访花者，无访花规律。蚂蚁为盗蜜者，访花频率很低。我们观察到有熊蜂经常在附近活动，但熊蜂更偏向于对附近的凤仙花进行访问。韭菜坪的多星韭大部分都是紫色花色，也有发现数量极少的白色花，本实验对紫花和白花多星韭进行了访花观察，发现分别对白花与紫花的居群进行访花观察时发现蜜蜂对紫花的花频率显著高于白花，但蜜蜂的单次访花频率并无显差异。当白花和紫花混合在一起时发现蜜蜂的会优先访问紫花（$P<0.001$），对紫花有明显的优先访问偏好，但这时的访花频率无显著性差异，蜜蜂单次访花频率也无显著性差异（表 1）。蜜蜂单次移出量为自然移出量的 75.71 %有很高的移出率，单次落置的数为 9.918 9±2.783 0。自然状态下落置花粉数为

50.47±6.99，有异种花粉，其中 69.20±2.79 %的花粉为多星韭正常花粉（表 2）。

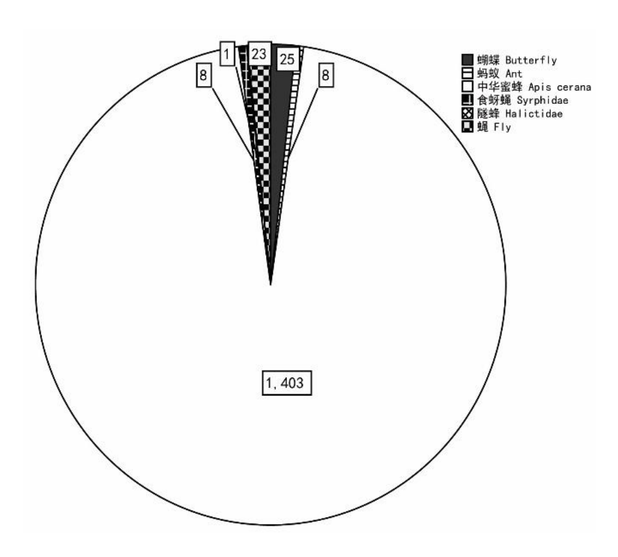


图 3 不同类型的访花者访问频次

Fig. 3 Frequency of visits by different types of visitors

表 1 蜜蜂在不同条件下的访花

Table1 Flower visits by bees under different conditions

访花条件 Pollination condition	紫色 Purple	白色 White	Wald χ^2	*P*
单一颜色下的访花频率 Single color-visit frequency	8.1455^{a}	4.500 0^{b}	6.645	0.010
两种花色下访花频率 Two color-visit frequency	10.342 1	8.125 0	2.458	0.117
单一颜色下单次访花频率 Single color- Single visit frequency	0.083 1	0.097 8	0.768	0.381
两种花色下单次访问频率 Two color- Single visit frequency	0.063 8	0.078 1	0.938	0.333
优先访问次数 Number of priority visits	59.000 0^{a}	8.000 0^{b}	1 300.500	<0.001

注：单一颜色下的访花是指两种花色相隔较远时蜜蜂分别对两种花色的访花，两种颜色下的访花是指蜜蜂对大小相似的不同花色的花序相互靠近时的访花。不同字母标号代表两者之间具有显著性差异。

Note: Single color-visit frequency refers to the two colors visited by bees when the two colors are far apart. Two color-visit frequency refers to the two colors visited by bees when inflorescences of different colors of similar size approach each other. Different letter labels indicate significant difference.

表 2 花粉移出与落置

Table2 Pollen carryover and deposition

处理 Treatment	Single 单次	Nature 自然	Single / Nature 单次/自然（%）
Pollen carryover 花粉移出	29 653.39±3108.87	39 172.57±4 232.33	75.71
Pollen deposition 花粉落置	9.918 9±2.783 0	25.48±3.54	38.40

2.3 各部分组成分的测定

经测量其花蜜蜜量为 0.61±0.07 μL 每朵,花蜜量较少。通过气相色谱仪（安捷伦 6890）对多星韭的根、茎、叶、花瓣、柱头、子房、花蜜、花粉、花梗的九个部位进行分析。在检测出的 96（其中 7 种为标准品独有）种物质中发现，多星韭含有多种已知的葱属特有的挥发性气味，Disulfide, di-2-propenyl、Trisulfide, di-2-propenyl（司民真等, 2014）。共检测到含硫刺激性次级代谢物质 6 种：1-[3-(4-Bromophenyl)-2-thioureido]-1-deoxy-b-d-glucopyrano,4,6-tetraacetate、 Disulfide, di-2-propenyl、Propanoic acid, 3-(acetylthio)-2-methyl-, (S)-、Carbamimidothioic acid, methyl ester、Trisulfide, di-2-propenyl、Sulfurous acid, dipropyl ester。其中 Disulfide, di-2-propenyl 、Trisulfide, di-2-propenyl、1-[3-(4-Bromophenyl)-2-thioureido]-1-deoxy-b-d-glucopyrano,4,6-tetraacetate 存在于茎，Carbamimidothioic acid, methyl ester 存在于子房，Sulfurous acid, dipropyl ester 存在于花梗。在花蜜中检测有大量 beta-Sitosterol（15.443）的存在，其他部位没有。我们从已检测出的 96 种成分中根据 Knudsen（2006）和数据库查询筛选出 16 种具有花香信息的物质（2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol、Hexadecanoic acid、Octadecanoic acid, ethyl ester (CAS)、1-PROPANOL-O-D、2-Butanone, oxime、2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-、2(3H)-Furanone, 5-methyl-、Ethane, 1,2-diethoxy- (CAS)、 Phenol、Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-、n-Hexadecanoic acid、Octadecanoic acid (CAS)、1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester、Acetic acid anhydride、Acetic acid, hydroxy-, ethyl ester 、Propyl lactate、Ethane, 1,1-diethoxy- (CAS)、Tetraethyl silicate 其中有 13 中均在花的器官（子房、花瓣、柱头）或花蜜和花粉中存在，花蜜中含有 9 种，存在种类最多（表 3）。含量较高的为 Acetic acid anhydride（4.02）、Acetic acid, hydroxy-, ethyl ester（8.23）、Tetraethyl silicate（5.40）。

表 3 气相色谱分析分析不同部位的化学成分

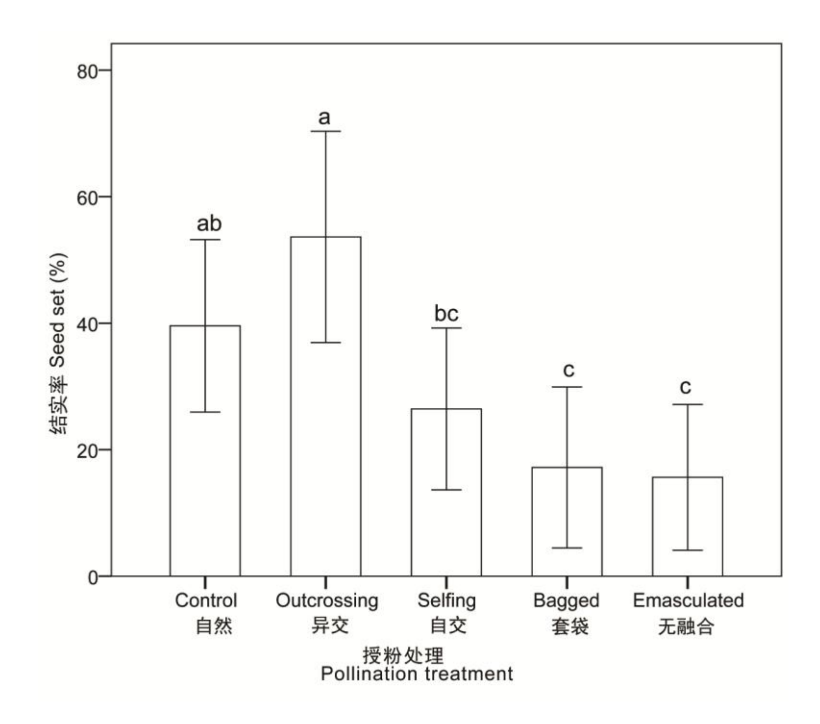
Table3 Analysis of Chemical constituents in different parts by Gas Chromatography

化合物 Chemical compound	分子式 Molecular formula	根 Root	茎 Scape	叶 Leaf	花瓣 Petal	柱头 Stigma	子房 Ovule	花蜜 Nectar	花粉 Pollen	梗 Pedicel
Beta-Sitosterol	$C_{29}H_{50}O$							15.44		
Disulfide, di-2-propenyl	$C_6H_{10}S_2$		3.67							
Trisulfide, di-2-propenyl	$C_6H_{10}S_3$		1.08							
Sucrose	$C_{12}H_{22}O_{11}$						12.87			
Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	$C_{14}H_{22}O$							1.39		
n-Hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	8.39	6.27	9.77	8.01	5.69	8.56	10.55	12.32	14.00
9,12,15-Octadecatrienoic acid	$C_{18}H_{30}O_2$		2.86	3.22	7.51		8.9		8.76	

Octadecanoic acid (CAS)	$C_{18}H_{36}O_2$	2.37	2.32		3.32	3.46	1.00	6.28	3.60	3.10
2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	$C_{19}H_{36}O$							1.434		
1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	$C_{20}H_{30}O_4$			2.42					3.47	
Neophytadiene	$C_{20}H_{38}$			22.49						
Octadecanoic acid, ethyl ester	$C_{20}H_{40}O_2$							1.68		
1-[3-(4-Bromophenyl)-2-thioureido]-1-deoxy-b-d-glucopyrano, 4,6-tetraacetate	$C_{21}H_{25}BrN_2O_9S$		1.93							
Carbamimidothioic acid, methyl ester	$C_2H_6N_2S$						1.10			
1-propanol-o-d	C_3H_7DO						2.16			
Acetic acid anhydride	$C_4H_6O_3$		3.68					4.02	1.64	
Acetic acid, hydroxy-, ethyl ester	$C_4H_8O_3$		5.81			3.42	1.37	8.23		2.80
2-Butanone, oxime	C_4H_9NO						1.85			
2(3H)-Furanone, 5-methyl-	$C_5H_6O_2$						1.94			
2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	$C_5H_6O_2$		2.94		2.11			1.46		1.50
Propanoic acid, 3-(acetylthio)-2-methyl-, (S)-	$C_6H_{10}O_3S$		1.47							
Propyl lactate	$C_6H_{12}O_3$							1.564		
Ethane, 1,1-diethoxy- (CAS)	$C_6H_{14}O_2$			2.72						
Ethane, 1,2-diethoxy- (CAS)	$C_6H_{14}O_2$			3.2	4.58	8.16				
Ethane, 1,3-diethoxy- (CAS)	$C_6H_{14}O_3$			2.58						
Sulfurous acid, dipropyl ester	$C_6H_{14}O_3S$									0.7
Phenol	C_6H_6O	10.47								
Tetraethyl silicate	$C_8H_{20}O_4Si$	2.89	1.55			3.70	1.85	5.40		1.30

2.4 人工控制授粉实验

异交结实率与显著高于自交结实但与自然对照无显著性差异，自然对照显著高于无融合与自动自花处理（图 4）。



注：不同字母表示显著性差异（$P<0.05$）。

Note: Different letters indicate significant differences($P<0.05$).

图 4 不同处理的结实率

Fig. 4 Seed setting rate of different treatments

2.5 光谱

对两种花色的花瓣和花药做光的反射光谱分析，检测多星韭的两种花色的对蜜蜂视觉的显著性表达，白色的花瓣和花药在昆虫的视觉中远不如紫色的显著（图 5）。

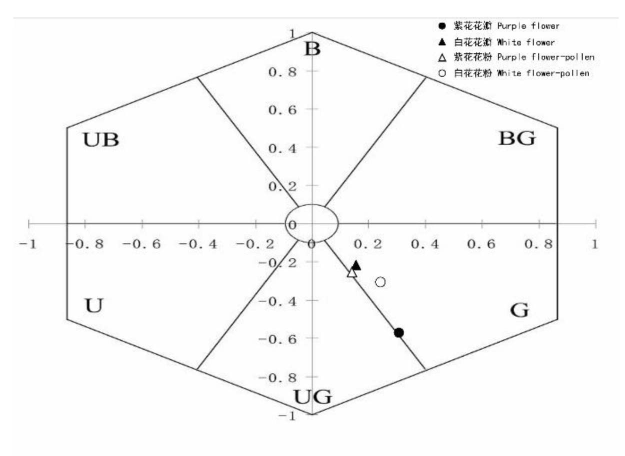


图 5 花色在蜜蜂视觉中的显著性表达

Fig. 5 Significant expression of color in bee vision

3 结果与讨论

3.1 繁殖方式

多星韭的花具有有性繁殖、营养繁殖、无融合生殖 3 种结实方式，且自交亲和。有性生殖与自然对照无显著性差异，花粉限制对多星韭有性生殖影响较小。营养繁殖能够极大的提高幼苗的成活率，在恶劣的高山环境下能够减少繁殖资源的浪费，是一种有力的繁殖保障。同时当生存条件与繁殖压力增大时，无融合生殖可以以种子的方式保留物种多样性（Biknell, 2004; Tucker, 2009; Koltunow, 2011; 贾宁等, 2015），这种繁殖方式使多星韭能够在在冰期等

恶劣气候时期得到很好的保存，并且得以南扩张（白娟等, 2018）。因此多星韭所具有的繁殖方式对多星韭在韭菜坪地区的繁殖适应为重要的基础。

3.2 花部特征与访花适应性

多星韭单花花期 7~8 d，花序的持续开放时间约为 25~28 d，同时多星韭有六个花药分两批成熟，每次成熟裂开三个花药。这些特征弥补了韭菜坪地区频繁的湿寒多雨的天气所导致传粉者传粉时间少的不足，提高了雌雄适合度。多星韭的花雌雄异熟，雄期结束时柱头开始生长，雌期柱头与雄蕊等长或者高于雄蕊，柱头成熟呈紫红色。多星韭花为球形花序自下而上开放，这种开花的时间模式是与传粉者的由下向上的觅食策略是相吻合的，有学者认为这种方式可以有效避免自交，增加异交（Lloyd & Webb, 1986）；但 Mallick（2001）的观点似乎更符合多星韭的繁殖特征，他指出先成熟雄蕊维持原状，而后成熟的雌蕊继续生长并在空间上超出先成熟的性别器官，从而避免了性别的干扰。两个性别阶段的分离程度一般受传粉者数量的影响：当传粉者数量较多时，花粉可迅速散布出去，减少雌雄重叠时间有效避免自交；当传粉者很稀少时，两个性别阶段重叠的程度就会随昆虫访问频率的减少而增大，这样滞留的大量花粉在不良环境下可进行自花授粉以保障繁殖。为了适应当地访花环境，多星韭的花粉量巨大，花粉与传粉者表现出较高的契合度，使传粉者在一次访花行为过程中能够转移大量的花粉，多星韭与传粉者形成了少次而大量的花粉携带关系。多星韭的花序有大量的花，但每朵花的花蜜量较少，使得访花昆虫想要得到足够多的花蜜就需要大量访花，从而访花频率提高，使授粉成功率增加。故多星韭花部特征的经过长期与当地访花者与访花环境的相互影响表现出较高的适应性，这也使得多星韭的有性繁殖受花粉限制影响较小。

3.3 花色与次生代谢物对访花的影响

访花者对两种花色的多星韭的访花行为有明显的不同，大部分蜜蜂会优先访问紫色花，蜜蜂对紫色花的访花频率显著高于白色，由此可见紫色花色的花对多星韭更有吸引力（Weiss, 1991），我们的昆虫视觉图的结果也再次证实了这个结论。但蜜蜂单次访花频率无显著性差异，而且当两种花色的花序互相靠近蜜蜂的访花频率无显著差异。在气相色谱的检测中花蜜以及花的各部均有多种挥发性次生代谢物质，并且带有特殊的气味，其中花蜜含有的种类最多，同时靠近花序时能够闻到特殊的辛香味，多星韭的花具有产生气味的功能。因此当白花与紫花相互靠近时由于两种花的气味信息相同，使蜜蜂识别到这两种花是同一种花。气味吸引是自然界最常见的吸引机制，对访花者的飞行定位起重要的引导作用（卢清彪等, 2019）。研究认为由花释放出的挥发性气体向外扩散，可以吸引数千米以外的传粉者（Andersson & Dobson, 2003）。该实验证明气味在近距离也为访花者提供一定的辨识信息，但对蜜蜂而言在近距离的访花信息可能是以视觉为主，虽然气味也同时发挥作用，但是吸引效果不如视觉信息。故而，花色与气味皆是多星韭吸引访花者的重要手段，只是作用效果可能存在一定差别。

气相色谱的检测发现多星韭茎中的含量硫次级代谢物种类最多，含量较高。茎作为花序的支撑部位营养物质较少，刺激性含硫代谢物较多，能够有效抑菌防腐和防啃食，并且茎为粗壮的三菱形，可以应对当地多风多雨的恶劣环境，对花序有着强有力的支撑作用，使花序高而醒目，有利于访花。

参考文献：

ANDERSSON S, HEIDI E. M. DOBSON, 2003. Behavioral foraging responses by the butterfly *Heliconius melpomene* to *Lantana camara* floral scent[J]. J Chem Ecol, 29(10): 2303-2318.

APPEL HM, SCHULTZ JC, 1994. Oak tannins reduce effectiveness of Thuricide (*Bacillus thuringiensis*) in the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) [J]. J Econ Entomol, 87: 1736-1742.

ARROYO MTK., RICHARD P, JUAN A, 1985. Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of Central Chile. Ⅱ. Effect of temperature on visitation rates and

pollination possibilities[J]. Plant Syst. Evol., 149: 187 - 203.
BAI J, XIE DF, ZHOU SD, 2018. Responses of the distribution pattern of *Allium wallichii* to climate change following the last Glacial Maximum[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin , 38(1)：176-182 [白娟，谢登峰，周颂东，等, 2018. 多星韭分布格局对末次盛冰期以来气候的响应[J]. 西北植物学报, 38(1)：176-182]
BIKNELL RA, KOLTUNOW AM, 2004. Understanding apomixis：recent advances and remaining conundrums[J]. Plant Cell, 16（suppl 1）：S228-S245.
BINGHAM RA, ORTHNER AR,1998. Efficient pollination of alpine plants. Nature, 391: 238 - 239.
Chinese Botanical Committee of the Chinese Academy of Sciences, 1980. Chinese flora. Volume 14, angiosperms, monocotyledonous, Liliaceae. One [M]. Beijing: Science Press: 210.[中国科学院中国植物志委员会, 1980. 中国植物志. 第十四卷，被子植物门，单子叶植物纲，百合科.一[M]. 北京：科学出版社: 210.
DOBSON HEM, 1994. Floral volatiles in insect biology. Insect-Plant Inter-actions[J]. CRC Press Boca Raton F L, (5) :47-81.
FAEGRI K, VAN DER PIJL, 1979. The principles of pollination ecology[J]. J Ecol, 81:71-72
FENSTER CB, ARMBRUSTER WS, WILSON P, et al., 2004. Pollination syn-dromes and floral specialization[J]. Ann Rev Ecol Evol Syst, 35 (1): 375-403
GRONQUIST MR, BEZZERIDES A, ATTYGALLE AB, et al., 2001. Attractive and defensive functions of the ultraviolet pigments of a flower (*Hypericum calycinum*) [J]. Proc Nat l Acad Sci USA, 98(24): 13745-13750.
JIA N, TANG YY, ZENG, YR, et al., 2015. Research Progress on Apomixis in Plants [J]. Biotechnology Bulletin, 31(12):15-24. [贾宁，唐研耀，曾燕如, 2015. 植物无融合生殖研究进展[J]. 生物技术通报, 31(12):15-24.]
JIE W, 2012. Breeding svstem of *Magnolia officinalis* subsp. *biloba* and its endangered cause analysis of reproductive biology[D]. Beijing: AFS: 1-96. [王洁, 2012．凹叶厚朴繁育系统研究及其濒危的生殖生物学原因分析[D]．北京：农林科学院: 1-96.]
WANG J, DANG CL., 2006. Research progress on ecological genetics of *Allium wallichii*[J]. For Invent Plann, 31(2):93-96. [王锦，党承林, 2006. 多星韭(*Allim wallichii* Kunth)生态遗传学研究进展[J]. 林业调查规划, 31(2):93-96.]
JING X, GREBENOK R J, BEHMER S T., 2012. Plant sterols and host plant suitability for generalist and specialist caterpillars[J]. J Insect Physiol, 58(2):235-244.
JONES C E, LITTLE R J., 1983. Handbook of experimental pollination biology[J]. Quart Rev Biol, 223(4):225-34.
JONES K. N, REITHEL J S, 2001. Pollinator-mediated selection on a flower color polymorphs in experimental populations of *Antirrhinum (Scrophulariace*ae) [J]. Amer J Bot, 88: 447-454.
KAISER R A J.1993 On the scent of orchids[M]. In ACS symposium series (USA) (28):407-454.
KNUDSEN J T, TOLLSTEN L, BENGSTROM G., 1993. Floral scents-a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques[J]. Phyto-chemistry, (33): 253-280.
KOLTUNOW AM, JOHNSON SD, OKADA T., 2011.Apomixis in hawkweed：Mendel’s experimental nemesis[J]. J Exp Bot, 62(5)：1699-1707.
LLOYD D G, WEBB C J., 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy[J]. N Z J Bot, 24(1): 135-162.
MALLICK S A., 2001. Facultative dichogamy and reproductive assurance in partially protandrous plants[J]. Oikos, 95(3): 533-536.

MICHAEL A, BIRKETT, COLIN AM, 2000. Campbell,et al.New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 97(16):9329-9334.
SI MZ, ZHANG CY, LI L et al., 2015. Rapid detection of volatile organic compounds of green chinese onion using headspace combined with SERS[J]. Acta Laser Biol Sin, 24(4) :348-353.[司民真，李伦，张川云，等, 2015. 顶空及 SERS 结合快速检测葱属植物-大葱挥发物[J]. 激光生物学报, 24(4): 348-353.]
SI MZ, ZHANG CY, LI L, et al., 2014. Studies on volatile compounds of *Allium*[J]. J Chuxiong Univ, 29(3):17-23.[司民真，张川云，李伦，等, 2014. 葱属植物挥发性物质研究[J]. 楚雄师范学院学报, 29(3):17-23..]
NILSSON, LA, 1998. The evolution of flowers with deep corolla tubes[J]. Nature, 334: 147-149.
ØRJAN TOTLAND, 2001. Environment-dependent pollen limitation and selection on floral traits in an alpine species[J]. Ecology, 82(8):2233-2244.
QINGBIAO L, CHANGQIU L, WENXIU T et al., 2019. Pollination biology of *Hopea chinensis*[J]. Guihaia, http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.q.20190430.1403.008.html. [卢清彪，刘长秋，唐文秀，等, 2019. 狭叶坡垒传粉生物学初探[J]. 广西植物, http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.q.20190430.1403.008.html]
YAN SC, ZHANG DD, CHI DF, 2003. Advances of studies on the effects of plant volatiles on insect behavior[J]. Chin J Appl Ecol, 14(2):310. [严善春，张丹丹，迟德富， 2003. 植物挥发性物质对昆虫作用的研究进展[J]. 应用生态学报, 14(2):310-313.]
YANG S, LI HP, ZHANG LLZ, et al. 2009. Cytological karyotype of the different populations of *Allium wallichii* Kunth in Yunnan[J]. N Hortic, (8): 78-80. [杨爽，李海鹏，赵莉丽，等, 2009. 云南多星韭不同群体的细胞核型研究[J]. 北方园艺, (8): 78-80.]
SURBURG H, GUENTERT M, HARDER H., 1993. Volatile compounds from flowers[J]. ACS Symposium, (525): 168-186.
TANG XX, HUANG SQ, 2012. Research progress on diversity and variation in flower color[J]. Plant Diver Resour, 34(03):239-247. [汤晓辛，黄双全, 2012. 花色多样性与变异的研究进展[J]. 植物分类与资源学报, 34(03):239-247.]
TUCKER MR, KOLTUNOW AM., 2009. Sexual and asexual（apomictic）seed development in flowering plants：Molecular, morphological and evolutionary relationships[J]. Funct Plant Biol, 36（6）：490-504.
WANG XF, GAO WQ, LIU JF, et al. 2015. Plant defensive strategies and environment-driven mechanisms[J]. Chin J Ecol, 34(12): 542-3552 [王小菲，高文强，刘建锋，等, 2015. 植物防御策略及其环境驱动机制[J]. 生态学杂志, 34(12):3542-3552.]
WEISS M R., 1991. Floral colour changes as cues for pollinators. Nature, 354(6350):227-229.
WRIGHT G A, SKINNER B D, SMITH B H., 2002. Ability of honeybee *Apis mellifera*, to detect and discriminate odors of varieties of canola (*Brassica rapa* and *Brassica napus*) and snapdragon flowers(*Antirrhinum majus*)[J]. J Chem Ecol, 28(4):721-740.
WYATT R., 1983. Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems. Read, Led. Pollination Biology[M]. Orlando: Academic Press: 1983:51-95.
ZOU XJ, HUANG RF, ZHAI SH, 2013. Detection of hexaploid and mechanisms of polyploidy formation in *Allium wallichii* Kunth[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin , 33(6):1114-1122. [邹晓菊，黄瑞复，翟书华, 2013. 六倍体多星韭的发现及多星韭种内倍性组成及演化的分析[J]. 西北植物学报, 33(6):1114-1122.]
HE YP, LIU JQ, 2003. A review on recent advances in the studies of plant breeding system[J]. Chin J Plant Ecol, 27(2):151-163.[何亚平，刘建全, 2003. 植物繁育系统研究的最新进展和

评述[J]. 植物生态学报, 27(2):151-163.]
GUANG ZY, WU YG, YUANG HB, et al. 2005. Search review of insect pollination mechanism[J]. Jilin Agric Univ, 27(6):608-613. [官昭瑛，吴艳光，袁海滨，等, 2005. 昆虫访花机制研究概述[J]. 吉林农业大学学报, 27(6):608-613.]
ZHANG YG, ZHANG DY, 2006. Asexual and sexual reproductive strategies in clonal plants[J]. Chin J Plant Ecol, 30(1):174-183 [张玉芬，张大勇, 2006. 克隆植物的无性与有性繁殖对策[J]. 植物生态学报, 30(1):174-183].
ZHOU ZM, YU DQ, CONG PZ, 1999. Advances in chemistry and pharmacology of *Allium*[J]. Acta Pharm Sin, 34(5):395-400. [邹忠梅，于德泉，丛浦珠, 1999. 葱属植物化学及药理研究进展[J]. 药学学报, 34(5):395-400.]